

large, dilated dorsobasally. Ventral fragma triangular, longer than broad. Novasternum without median notch but with a pair of submedian spines.

Drosophila malerkotliana. General body coloration pale yellow, each abdominal tergite with a black band, except

in male where terminal tergites completely black. Sex-comb in 2 sets, upper metatarsal comb with 2 transverse rows of 1 and 3-4 tough bristles; lower tarsal comb with similar rows of 1 and 3 tough bristles (Figure 1). Periphallalic organs (Figure H): Genital arch with about 22-25 bristles along posterior margin. Other characters similar to *bipunctinata*. Phallic organs (Figure G): Aedeagus bifid, broadened at middle, pointed and curved apically. Ventral fragma nearly quadrate. Other characters similar to *bipunctinata*.

Hybrids. General body coloration pale yellow, each abdominal tergite with a narrow black band, except in male where terminal tergites light black. Male prothoracic legs with 2 obliquely placed sex-combs on metatarsal segment, upper one with about 3-5 teeth, lower one with 5-7 teeth, first tarsal with 2 transverse rows of 1, and 2-3 teeth (Figure F).

Periphallalic organs (Figure E). Genital arch with about 25 bristles along posterior margin. Other characters similar to parental species.

Phallic organs (Figure D). Ventral fragma apparently quadrate, a little longer than broad. Other characters similar to parental species.

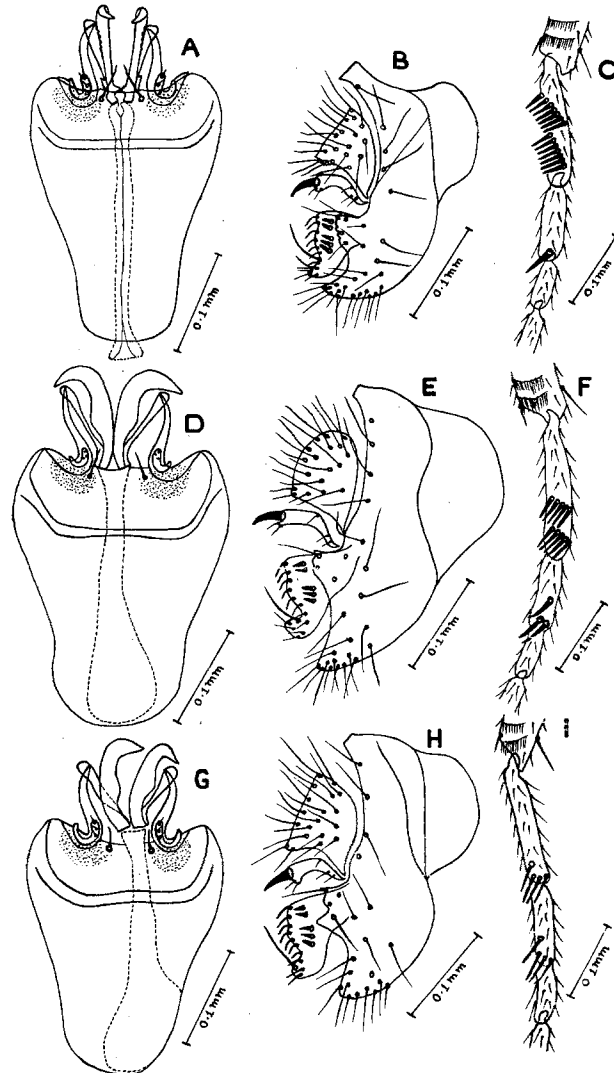
Remarks. *D. bipunctinata* and *D. malerkotliana* are closely related species. Females of both species are very much similar but their males differ only in sex-comb pattern and abdominal tergite coloration. Furthermore, male genital components of both the species are apparently alike.

In the present studies it has been found that abdominal tergite coloration of male hybrids is like that of *malerkotliana* while sex-comb pattern is more like *bipunctinata*. Other characters like aedeagus, parameres, basal apodeme, ventral fragma, genital arch, claspers are really of intermediate type.

Zusammenfassung. Körperfarbe und Strukturen des Genitalapparates sowie der Geschlechtskämme des 1. Beinpaars männlicher Hybriden aus reziproken Kreuzungen von *Drosophila bipunctinata* × *D. malerkotliana* werden beschrieben. Die Hybriden zeigen intermediäre Merkmale, wobei vergleichend die Körperfarbe mehr *D. malerkotliana*, die Geschlechtskämme mehr *D. bipunctinata* ähnlich sind.

J. P. GUPTA¹⁷

Cytogenetics Laboratory,
Department of Zoology,
Banaras Hindu University,
Varanasi 5 (India), 17 May 1972.



D. bipunctinata, A) phallic organs; B) periphallalic organs; C) male prothoracic leg. *Hybrid*, D) phallic organs; E) periphallalic organs; F) male prothoracic leg. *D. malerkotliana*, G) phallic organs; H) periphallalic organs; I) male prothoracic leg.

¹⁷ Acknowledgments. The author is thankful to the U.G.C. for extending financial assistance and to Prof. J. P. THAPLIYAL, Head of the Department for facilities.

Über die Ätiologie der Lippen-Kieferspaltformen und Gaumenspalten beim Menschen und im Tierexperiment

Lippen-Kiefer-Gaumen(LKG)-Spaltformen sind beim Menschen die zweithäufigsten Missbildungen. Von 1000 lebend geborenen Kindern haben 1-2 Spalten¹. Variationen dieser Missbildung – einseitige und doppelseitige Spalten verschiedener Ausprägung – treten häufiger isoliert auf, als in Verbindung mit Embryopathiesyndromen, wie Missbildungen der Extremitäten, Meningocelen, Gehirnanomalien etc. Kausalgenetisch und morphologisch werden zwei Gruppen unterschieden:

- LK-Spalten ohne bzw. mit Fortsetzung in den Gaumen;
- isolierte Gaumenspalten.

Die Befunde der in unserer Klinik operativ korrigierten Fälle werden seit 15 Jahren dokumentiert. Die Auswertung des Materials der Datensammlung ergibt Hinweise auf verschiedene endogene und/oder exogene Ursachen. Wobei jedoch berücksichtigt werden muss, dass

¹ G. PFEIFER, Therapiewoche 22, 1939 (1972).

dieser Dokumentation nur Anamnesen zugrunde liegen. Ein beträchtlicher Anteil, mehr als ein Viertel der Fälle, wurde in Anbetracht des weiteren Vorkommens von LKG-Spalten in der Familie des Patienten als erblich bedingt eingestuft. Aber auch verschiedene exogene Faktoren sind in vielen Fällen als mehr oder weniger wahrscheinliche Ursachen ermittelt worden. Eine eindeutige Abgrenzung ist wegen der Fehlerquellen bei anamnestischen Erhebungen nicht möglich.

Für die Aufklärung der Kausalbeziehungen in der Ätiologie von LKG-Spalten ist der Tierversuch von besonderer Bedeutung, aber auf diesem Gebiet bestehen experimentelle Schwierigkeiten, denn das Auftreten von LKG-Spalten ist schon bei zwei miteinander nahe ver-

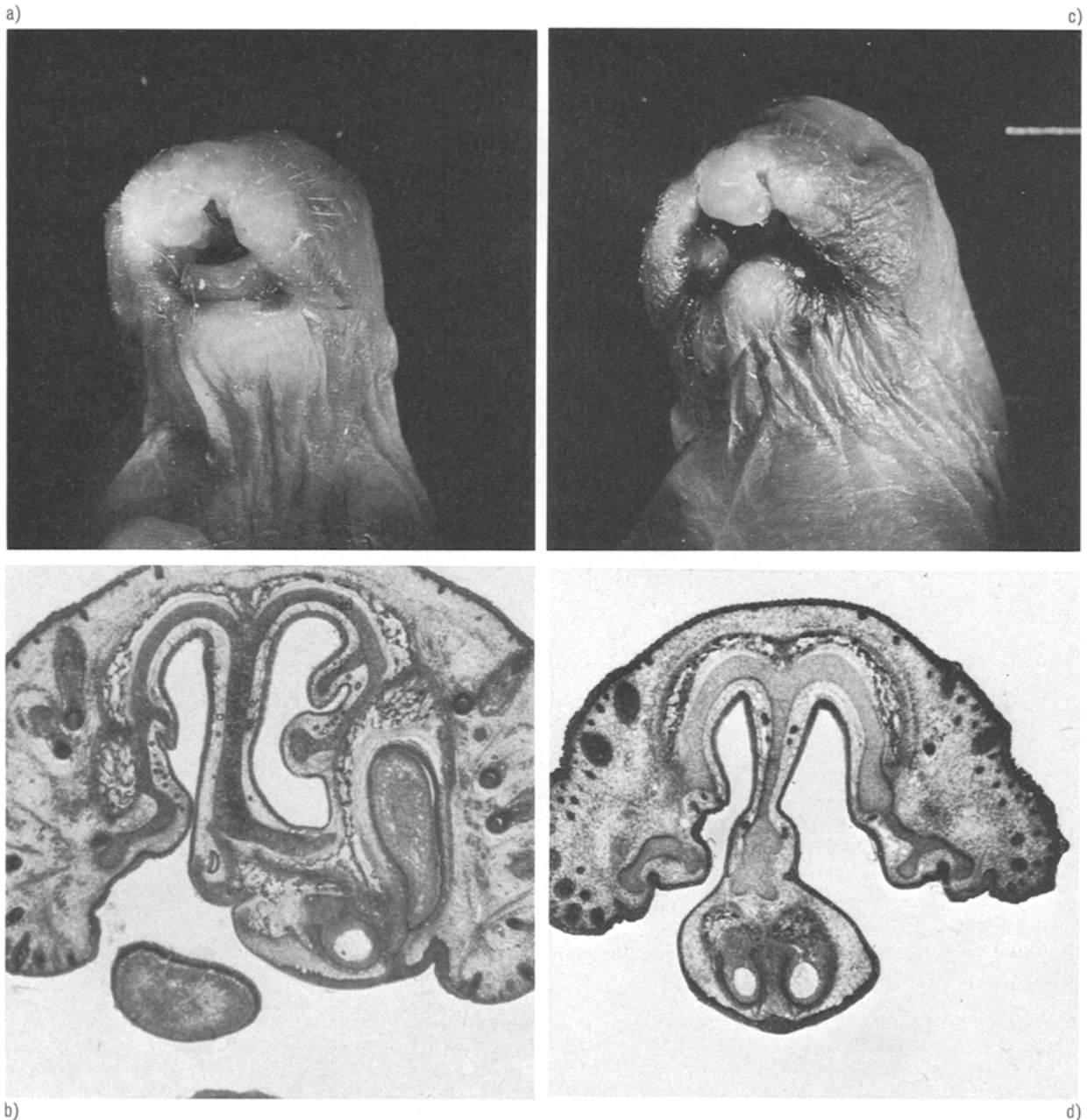
wandten Laboratoriumsnagergattungen wie Mäusen und Ratten unterschiedlich.

In der Literatur wird von *Mäusestämmen* berichtet, die eine hereditär bedingte hohe LKG-Spalten- bzw. Gaumenspaltenrate haben²⁻⁴. Dem Gaumenverschluss liegt bei den Mäusen ein höchst empfindlicher Mechanismus zugrunde, der sogar durch unspezifische Reize gestört

² S. REED und D. G. SCHNELL, Anat. Rec. 51, 43 (1931).

³ F. STEINIGER, Z. mensch. Vererb.- und Konstit. Lehre 25, 571 (1969).

⁴ J. G. DAVIDSON, F. C. FRASER und G. SCHLAGER, Teratology 2, 371 (1969).



Einseitige und doppelseitige LKG-Spalten bei der Ratte nach Behandlung mit 500 mg/kg Formhydroxamsäure am 13. Tag der Gestation. a) und c) Neugeborene Rattenfeten, Spaltträger. b) und d) Histologische Frontalschnitte in der Höhe der OK-Frontzähne. b) Rechter Incisivus mit Entwicklungsverzögerung und Cyste in der Pulpa, linker Incisivus normal entwickelt, Brachygnathie. d) beide Frontzähne in der Entwicklung verzögert, mit Cysten, Brachygnathie.

Tabelle I. Chemische Konstitution und teratogene Wirkung bei der Ratte. Variationen der LKG-Spalten erzeugenden Wirkung durch Veränderungen des wirksamen Moleküls

Nicht teratogen wirksam	Teratogen wirksam		
	Gehirn- und Extremitätsmissbildungen, Kauschädel normal entwickelt	Gehirn- und Schädeldefekte, Gaumenspalten	LKG-Spalten Brachygnathie
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}-\text{C}-\text{N} \begin{array}{l} \nearrow \text{H} \\ \searrow \text{H} \end{array} \end{array}$ Formamid $\text{DL}_{50} = 3000 \text{ mg/kg}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}-\text{C}-\text{N} \begin{array}{l} \nearrow \text{CH}_3 \\ \searrow \text{OH} \end{array} \end{array}$ N. Methylformhydroxamsäure $\text{DL}_{50} = 1500 \text{ mg/kg}$ $\text{TD}^a = 700 \text{ mg/kg}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}-\text{C}-\text{N} \begin{array}{l} \nearrow \text{CH}_3 \\ \searrow \text{H} \end{array} \end{array}$ N. Methylformamid $\text{DL}_{50} = 2700 \text{ mg/kg}$ $\text{TD}^a = 500 \text{ mg/kg}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}-\text{C}-\text{N} \begin{array}{l} \nearrow \text{OH} \\ \searrow \text{H} \end{array} \end{array}$ Formhydroxamsäure $\text{DL}_{50} = 570 \text{ mg/kg}$ $\text{TD}^a = 500\text{--}550 \text{ mg/kg}$
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}-\text{C}-\text{N} \begin{array}{l} \nearrow \text{H} \\ \searrow \text{CH}_2\text{COOH} \end{array} \end{array}$ Formylglycin $\text{DL}_{50} > 3000 \text{ mg/kg}$			$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}-\text{C}-\text{N} \begin{array}{l} \nearrow \text{OH} \\ \searrow \text{CH}_2\text{COOH} \end{array} \end{array}$ Hadacidin $\text{DL}_{50} = 5000 \text{ mg/kg}$ $\text{TD}^a = 1000\text{--}3000 \text{ mg/kg}$

^a Teratogene Dosis.

oder auch verhindert werden kann^{5,6}. Dementsprechend können auch im teratologischen Experiment durch verschiedene chemische Agentien bei verschiedenen Genotypen in unterschiedlich hohem Prozentsatz LKG-Spalten erzeugt werden⁷.

Bei *Ratten* sind dagegen Inzuchtstämme mit hoher genetisch bedingter LKG-Spaltenfrequenz unbekannt. Auch der Gaumenverschluss weist eine grössere Stabilität auf; Gaumenspalten treten phasenspezifisch bedingt als Embryo- oder Fetopathien nur in Verbindung mit komplexen Gesamtsyndromen – Meningocelen, Brachygnathien, Defekten der Extremitäten etc. – auf^{8,9}.

LKG-Spalten sind bei der Ratte im *teratologischen Experiment* relativ selten erscheinende Missbildungen. Nach Behandlung am 12. Tag der Gestation mit DNS-Basenanalogen oder anderen stark teratogen wirksamen Substanzen wurden gelegentlich bei Monstren mit extremen Gesamtmissbildungssyndromen LKG-Spalten beobachtet^{8,10,11}, vielfach jedoch in Verbindung mit völliger Destruktion der gesamten Gesichtsregion. LKG-Spalten nach Behandlung am 13. Tag der Gestation mit erheblich geringeren Begleitsymptomen erzeugen nur wenige Teratogene der gleichen Verbindungsgruppe: Das cytostatisch wirksame Antibiotikum Hadacidin (Tabelle I) bewirkt entsprechende Effekte^{12,13}.

In unseren Konstitution-Wirkungs-Studien fiel auf, dass die mit Hadacidin chemisch nahe verwandte Formhydroxamsäure (Tabelle I) bei der Ratte nach Behandlung am 13. Tag der Gestation mit 500–550 mg/kg (87% der DL_{50}) etwa bei der Hälfte der überlebenden Feten einseitige und doppelseitige LKG-Spalten erzeugt, zusammen mit Brachygnathien und leichten Extremitätsdefekten wie Syndactylien der vorderen Extremitäten^{11,14}. Erfolgt die Behandlung am 12. Tag der Gestation, so sterben im kritischen Dosisbereich sämtliche Feten ab, während eine verringerte Dosis keine Missbildungen erzeugt. Nach Applikation am 14. Tag der Gestation wird die Entwicklung des Kauschädels überhaupt nicht mehr beeinträchtigt. Neben Hypoplasien des ZNS wird lediglich, phasenspezifisch bedingt, die Entwicklung der hinteren Extremitäten in Form von Syndactylien und Ektrodactylien gestört.

Die ein- und doppelseitigen LKG- und LK-Spalten nach Behandlung am 13. Tag weisen die typische Spaltformation auf (Figur). Die im klinischen Bild beim Menschen charakteristischen Verdoppelungen oder Reduktionen der lateralen Schneidezähne im Bereich des Spaltes^{15,16} erscheinen, da die Ratte ein Nagergebiss hat, nicht in der beim Menschen bekannten Art und Weise. Bei einseitigen Spalten ist lediglich der Oberkiefer-Frontzahn an der Spaltseite, bei doppelseitigen Spalten sind beide Oberkiefer-Incisiivi in ihrer Entwicklung erheblich verzögert; sie bleiben im Glockenstadium stehen und enthalten in den Pulpae breite cystische Hohlräume – als typische Frontzahnmissbildungen bei der Ratte^{8,17}.

Ein weiterer interessanter Effekt ist bei den Spaltträgerfeten die vollständige Entwicklung der Incisiivi in der durch die Brachygnathie zurückversetzten Mandibula. So liegen median unter den Oberkiefer- und Unterkiefer-Molaren auch noch die Unterkiefer-Incisiivi in drei Reihen von Zahnkeimen übereinander.

Die Erzeugung von LKG-Spaltenformen ist nach unseren Untersuchungen weitgehend durch die Formhydroxamsäure-Struktur bedingt. Bestimmte Veränderungen des

⁵ S. PETERS und M. STRASSBURG, *Arzneimittel-Forsch.* 19, 1106 (1969).

⁶ S. ROSENZWEIG und F. M. BLAUSTEIN, *Teratology* 3, 47 (1970).

⁷ D. G. TRASLER, *Teratology* 1, 33 (1968).

⁸ R. SCHMITZ, W. BUSCH und Th. VON KREYBIG, *Dt. Zahn-, Mund- u. Kieferheilk.* 59, 385 (1972).

⁹ F. J. KENDRICK und C. G. T. KING, *Oral Surg.* 18, 690 (1964).

¹⁰ S. CHAUBE und M. L. MURPHY, *Cancer Res.* 29, 554 (1969).

¹¹ J. ROLFFS, Th. VON KREYBIG und G. PFEIFER, *Kongress dt. Ges. f. Kiefer- und Gesichtschirurgie*, Hamburg 14. Mai (1970).

¹² S. CHAUBE und M. L. MURPHY, *J. exp. Zool.* 152, 67 (1963).

¹³ M. LEJOUR, *Cleft Palate Gull.* 7, 169 (1960).

¹⁴ Th. VON KREYBIG, R. PREUSSMANN und W. SCHMIDT, *Arzneimittel-Forsch.* 18, 645 (1968).

¹⁵ G. PFEIFER, *M Schr. Kinderheilk.* 114, 244 (1966).

¹⁶ G. PFEIFER, in *Handbuch der Kinderheilkunde* (Eds. H. OPITZ und F. SCHMIDT; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1968), vol. 9, p. 347.

¹⁷ R. SCHMITZ, W. BUSCH und Th. VON KREYBIG, *Dt. Zahn-, Mund- u. Kieferheilk.*, im Druck.

Moleküls führen zum Verlust dieses Potentials (Tabelle I). Entweder entsteht nach den folgenden Beispielen eine völlig andere Art der teratogenen Wirkung, oder das Derivat beeinträchtigt überhaupt nicht die vorgeburtliche Entwicklung:

N-Methylformamid erzeugt nur isolierte Gaumenspalten zusammen mit Cranialhypoplasien und mesenchymalen Hämorrhagien am Corpus. N-Methylformhydroxamsäure bewirkt Gehirn-, Schädel- und Extremitätenmissbildungen, beeinträchtigt aber in keinem Fall die Entwicklung des Kauschädels. Das Basismolekül Formamid wirkt überhaupt nicht teratogen und auch Formylglycin stört selbst in extrem hoher Dosierung (6 g/kg) die Embryonalentwicklung nicht.

Weitere Substanzen, auch Hydroxamsäuren, die nach Behandlung am 13. Tag der Gestation bei der Ratte typische LKG-Spalten erzeugen würden, sind in der Literatur und aus den eigenen Versuchen noch nicht bekannt. Die Frage steht noch offen, ob andere Hydroxamsäuren, in früheren Stadien appliziert, z.B. am 11. oder 12. Tag der Gestation LKG-Spalten erzeugen oder nicht. (Ventrales Krümmungsstadium des Keimes und Zeitpunkt des Nabelanschlusses und der Plazentation¹⁸.) In unseren Versuchen beeinträchtigten teratogene Dosen von Acethydroxamsäure nach Behandlung am 13. Tag der Gestation in keinem Fall die Entwicklung des Kauschädels, es entstanden lediglich Gehirn-, Gesichts- und Extremitätenmissbildungen. Auch Hydroxyharnstoff erzeugte nur Brachygnathien, Schädel- und Extremitätsdefekte, während LKG-Spalten nicht beobachtet wurden^{14, 18}. Weitere Untersuchungen zur Frage, wie weit andere Hydroxamsäuren und ihre Derivate in embryonalen Entwicklungsstadien der Ratte appliziert, LKG-Spaltenformen erzeugen, sind im Gange. Bis jetzt haben sich Hinweise ergeben, dass einige Vertreter dieser Verbindungsgruppe in frühen Stadien auch LKG-Spalten erzeugen können¹⁹.

Unsere Untersuchungen zeigen im Zusammenhang mit unseren gesamten bisherigen Kenntnissen, dass die Entstehung bestimmter Missbildungsformen, wie z.B. die LKG-Spalten, durch artspezifische Besonderheiten, vor allem durch den genetischen Hintergrund einer jeweiligen Art bedingt ist.

Beim Menschen liegt die kritische Etappe für die Entstehung von LKG-Spalten vom Anfang bis zur Mitte der Embryonalphase (25.–32. Tag), bei der Ratte am 12./13.

Tag und bei der Maus am 10./11. Tag der Gestation^{7, 11, 18}. Fehlt im Experiment mit Versuchstieren eine besondere genetische Praedisposition wie bei der Ratte, so erzeugen in den kritischen Phasen nur bestimmte, stark organotrop wirksame Teratogene LKG-Spaltenformen, die mit denen beim Menschen vergleichbar sind. Hierbei fiel uns die besondere Organotropie zweier Derivate der Formhydroxamsäure auf, die in den kritischen Stadien bei der Ratte bevorzugt LKG-Spalten bewirken können. Bei Hadacidin scheint die N-Acetylierung eine Transportform dieses Wirkmechanismus zu verwirklichen (vergl. DL₅₀ und teratogene Dosis in Tabelle I), während die N-Alkylierung diese Wirkungsart maskiert (Tabelle I). Für jeden Fall ergibt sich aus unseren Befunden unter Heranziehung der einschlägigen biochemischen Studien die Folgerung, dass bei Ratten die Entstehung von LKG-Spalten in Verbindung mit dem wahrscheinlichen Wirkmechanismus von Hadacidin – durch die Hemmung des Enzyms Adenylosuccinin – Synthetase^{12, 20} – eine Rolle spielen könnte. Weitere Untersuchungen zur Klärung dieses Mechanismus und auch zur Vergleichbarkeit der Entstehung von LKG-Spalten bei Mensch und Versuchstier sind in Gange.

Summary. Only formhydroxamic acid and its certain derivatives induce in rats cleft-lip and palate (CLP) after treatment during early embryonic developmental phase. Other hydroxamic acids and formamide-derivatives caused different malformations but no CLP. Also unknown in rats in the hereditary CLP. The possible causes of CLP in rats are compared with these in mice and men.

G. PFEIFER und Th. VON KREYBIG

Nordwestdeutsche Kieferklinik, Chirurgische Abteilung der Universitätsklinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten, Martinistrasse 52, D-2000 Hamburg 20 (Deutschland), 24. Juli 1972.

¹⁸ Th. VON KREYBIG, *Experimentelle Praenatal-Toxikologie*. (Cantor KG, Aulendorf/Württ. 1968).

¹⁹ G. PFEIFER, Th. VON KREYBIG und R. PREUSSMANN, in Vorbereitung.

²⁰ H. T. SHIGEURA und C. N. GORDON, *J. biol. Chem.* 273, 1937 (1962).

Chromosomes of *Spermophilus adocetus* (Mammalia; Sciuridae), with Comments on the Subgeneric Affinities of the Species¹

HOWELL² named the subgenus *Notocitellus* and placed within it the species *Spermophilus annulatus* (the type species) and *S. adocetus*. BRYANT³ relegated the name *Notocitellus* to the synonymy of *Otospermophilus*, which previously had included only rock squirrels of the species *S. arcticapillus*, *S. beecheyi*, and *S. variegatus*. Subsequently, the relationships of New World ground squirrels have been studied extensively by comparison of chromosomes (see NADLER⁴ and elsewhere) and immunological reactions of blood proteins⁵, but neither species earlier assigned to *Notocitellus* was included in these investigations.

A young male *Spermophilus adocetus adocetus*⁶ (Museum of Natural History, The University of Kansas, No. 120576) was obtained at Xalitla, Guerrero, Mexico, and karyotyped from bone marrow preparations as described by LEE⁷. The karyotype of this animal (Figure) consists of 32 chromosomes that can be divided into 7 pairs of metacentric and 8 pairs of submetacentric elements with a

large metacentric and a small acrocentric element remaining as the heteromorphic pair. The latter two elements are thought to be the X and Y chromosomes,

¹ Field work was supported in part by a grant (No. GB-4446x, administered by The Committee on Systematics and Evolutionary Biology at The University of Kansas) from the National Science Foundation. BIRNEY was supported in the field by a grant from the University of Kansas General Research Fund (Biomedical Division). R. J. BAKER, Texas Tech University, provided technical assistance and critically reviewed the manuscript, and A. CADENA, The University of Kansas, translated the summary.

² A. H. HOWELL, *N. Am. Fauna* 56, 1 (1938).

³ M. D. BRYANT, *Am. Midland Nat.* 33, 257 (1945).

⁴ C. F. NADLER, *Syst. Zool.* 15, 199 (1966).

⁵ J. D. GERBER and E. C. BIRNEY, *Syst. Zool.* 17, 413 (1968).

⁶ T. ALVAREZ and J. RAMÍREZ-PULIDO, *Rev. Soc. Mexic. Hist. Nat.* 26, 181 (1968).

⁷ M. R. LEE, *Stain Tech.* 44, 155 (1969).